

# Imunopatogeneza pneumonija

## *Immunopathogenesis of Pneumonia*

**ALEMKO MARKOTIĆ**

Znanstvena jedinica, Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“,  
Zagreb, Mirogojska 8

**SAŽETAK** Pneumonija je najvažnija upalna bolest u dišnom sustavu iako sudjeluje samo jednim postotkom u svim akutnim infekcijama dišnog sustava. Kao i u većini drugih organa i sustava organa, imunosni obrambeni mehanizmi u plućima baziraju se na mehanizmima specifične i nespecifične imunosti i njihovim komponentama koje uključuju anatomske barijere te staničnu i humoralnu imunost. Prvu liniju obrane od infekcija donjega respiratornog sustava čine elementi nespecifične imunosti, među kojima najvažniju ulogu imaju epitelne stanice i makrofagi. Mehanizmi specifične imunosti imaju snažnu ulogu u obrani od različitih patogena, visoko su sofisticirani i ovise o prepoznavanju specifičnih antigena na površini mikroorganizama te tvore snažnu obranu protiv različitih patogena koji uzrokuju pneumonije. Međutim, za razliku od nespecifične imunosti, indukcija i razvoj imunoreakcija koje sudjeluju u specifičnoj imunosti mogu trajati danima i tjednima nakon ekspozicije patogenu, a važna komponenta tog procesa jest i stvaranje memorijskih stanica koje sudjeluju u snažnoj obrani pri ponovnim susretima s istim patogenima. Mehanizmi nespecifične i specifične imunosti u pneumonijama jesu kompleksni i bit će potrebna još brojna istraživanja da bi se bolje shvatili i rabili u kreiranju novih lijekova i cjepiva te bolje primijenili u uporabi postojećih lijekova. Osim važnog antimikrobnog djelovanja antibiotika ne smijemo nikako zanemariti ni njihovo protuupalno i imunomodulatorno djelovanje koje može pomoći u racionalnijem pristupu liječenju pneumonija.

**KLJUČNE RIJEČI:** pneumonija, nespecifična imunost, specifična imunost, imunomodulatorno djelovanje antibiotika

**SUMMARY** Pneumonia is the most important inflammatory disease of the respiratory system, although it represents only one percent of all acute respiratory infections. As in most other organs and systems of the body, immune defence mechanisms in lungs are based on the mechanisms of specific and non-specific immunity and their components that include anatomical barriers, and cellular and humoral immunity. The first line of defence against infections of the lower respiratory system consists of the elements of non-specific immunity, among which epithelial cells and macrophages have the most important role. The mechanisms of specific immunity play an important role in the defence against a variety of pathogens, they are highly sophisticated and depend on the recognition of specific antigens on the surface of microorganisms. They also provide a strong defence against a variety of pathogens that cause pneumonia. Unlike the nonspecific immunity, the induction and development of immune reactions involved in specific immunity can last for days and weeks after the exposure to the pathogen. An important component of this process is the creation of memory cells that participate in a strong immune defence to the reinfections with the same pathogens. The mechanisms of nonspecific and specific immunity to pneumonia are complex and will require more studies for better understanding and their use in the creation of new drugs and vaccines, as well as a better use of the existing drugs. In addition to an important antimicrobial effect of antibiotics, we must not disregard their anti-inflammatory and immunomodulatory effects that can help us take a more rational approach to treating pneumonia.

**KEY WORDS:** pneumonia, innate immunity, adaptive immunity, immunomodulatory effect of antibiotics



### Uvod

Pneumonija je najvažnija upalna bolest u dišnom sustavu iako sudjeluje samo jednim postotkom u svim akutnim infekcijama dišnog sustava. Ima veliko povijesno značenje jer je u predantibiotskoj eri bila glavni uzrok smrtnosti u ljudi (1–3). Prema mjestu nastanka, pneumonije dijelimo na one koje nastaju u općoj populaciji i one koje nastaju u bolničkoj sredini. Ako su uzrokovane izravnom infekcijom različitim mikroorganizmima, nazivamo ih primarnim pneumonijama, dok su sekundarne pneumonije one koje nastaju zbog drugih patoloških procesa na plućima koji pogoduju infekcijama kao npr.: bronhiektazije, opstrukcija, aspiracija i sl. (2, 3).

U kliničkoj podjeli pneumonija baziranoj na etiologiji dijelimo ih na bakterijske (alveolarne) i atipične (intersticijske) pneumonije. Ova vrsta podjele pneumonija ima praktičnu važnost zbog različitoga terapijskog pristupa njihovu liječenju.

Brojni mikroorganizmi mogu uzrokovati infekcije respiratornog sustava pa tako i pneumonije: bakterije, virusi, gljive. Nerijetko pneumonije uzrokuju i mikoplazme, klamidije, riketije, mikobakterije i paraziti.

Najčešći uzročnici bakterijskih infekcija jesu: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenzae*, anaerobne bakterije (npr. *Bacteroides* spp., *Peptococcus* sp. i dr.), *Enterobacteriaceae* (npr. *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia* i dr.), zatim *Pseudomonas aeruginosa* i *Legionella pneumophila*,

ali bilježe se i infekcije ovim patogenima: *Acinetobacter* spp., *Moraxella catarrhalis*, *Francisella tularensis*, *Nocardia* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus faecalis* i dr.

U odraslih bolesnika, ali i u djece, među virusnim uzročnicima pneumonija najčešće nalazimo: viruse influence A i B, respiratorni sincicijski virus, humani metapneumovirus i adenoviruse. U djece su česti uzročnici pneumonija i virusi parainfluence tipa 1, 2 i 3. Rjeđe među odraslima dokazujemo pneumonije uzrokovane: ECHO-virusima, Coxsackie virusima, hantavirusima i dr., ali posljednjih godina treba misliti na mogućnost uzrokovanja pneumonija koronavirusima kao što su SARS i MERS-CoV.

Pneumonije uzrokovane gljivama uglavnom se javljaju u imunokompromitiranih bolesnika, a uzrokuju ih najčešće: *Aspergillus* spp., *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* i *Cryptococcus neoformans*, a rjeđe *Candida* spp. i uzročnici mukormikoze (npr. *Rhizopus* spp., *Mucor* spp. i dr.) (2 – 4).

## Imunosni obrambeni sustav u plućima

Kao i u većini drugih organa i sustava organa, imunosni obrambeni mehanizmi u plućima baziraju se na mehanizmima specifične i nespecifične imunosti i njihovim komponentama koje uključuju anatomske barijere te staničnu i humoralnu imunost (1, 5). Obrana pluća od infekcije različitim mikroorganizmima osigurava se već u gornjem respiratornom traktu gdje važnu ulogu imaju nosna sluznica sa svojom sluzi i cilijarni epitel koji sudjeluju u odstranjivanju mikroorganizama i drugih stranih čestica kroz nazofarinks, mehaničkim izbacivanjem ili gutanjem sadržaja. U sklopu mehaničkih barijera koje služe kao obrambeni mehanizam gornjeg, ali i donjega respiratornog sustava jesu i mehaničko ispiranje sluznica slinom i odstranjivanje oštećenih epitelnih stanica, a dijelom i interferencija lokalne mikrobiote. Kašalj i epiglottički refleks također pridonose odstranjivanju stranih čestica, uključujući mikroorganizme, ali i stanice oštećene upalom (1, 5 – 8).

Epitelne stanice dišnog sustava proizvode antimikrobne peptide koji mogu ubiti različite mikroorganizme dospjele do respiratornog epitela. Mikroorganizmi otporni na takve peptide mogu biti uništeni reaktivnim kisikovim spojevima koje proizvode fagociti. Važnu ulogu u lokalnoj sluzničnoj imunosti imaju IgA-sekretorna antitijela, kao i komplement, koji imaju određena antivirusna i antibakterijska svojstva. Mikroorganizmi koji uspiju izbjeći ove mehanizme nespecifične imunosti najčešće budu uništeni mehanizmima specifične imunosti. Važnu ulogu u obrani pluća od mikroorganizama imaju i vaskularni sustav te dišni putovi.

Kao i u drugim organima tako i u vaskularnom sustavu pluća endotelne stanice arterija, vena i kapilara imaju ulogu u upalnom odgovoru na patogene, kao što i epitelne stanice u dišnom sustavu imaju ulogu u upalnim procesima. Alveolarni je epitel sastavljen od tipa I i tipa II alveolarnih epitelnih stanica ili pneumocita. Tip I pneumocita pokriva 90 – 95% alveolarne površine,

dok pneumociti tipa II čine 15% plućnog parenhima i pokrivaju oko 7% ukupne alveolarne površine. Pneumociti tipa II mogu biti i progenitorske stanice za pneumocite tipa I. Danas je sasvim jasno da epitelne stanice dišnih putova mogu djelovati kao imunosne stanice i sudjelovati u imunosnim odgovorima na mikroorganizme na više načina kao što su: ekspresija adhezijskih molekula, lučenje citokina, kemokina i drugih čimbenika. Na taj način utječu na inicijaciju i egzacerbaciju upalnog odgovora u dišnim putovima (5 – 9). Važan element nespecifične imunosti jesu i receptori slični Tollu (TLR), koji se nalaze na respiratornom epitelu, gdje sudjeluju u nespecifičnom procesu prepoznavanja patogena koji uzrokuju infekcije respiratornog trakta, a najčešće se opisuje uloga TLR1 – 6 i 9 (1, 5, 10).

Jednu od važnih spona između nespecifične i specifične imunosti čine dendritičke stanice (DC) čije su dvije najvažnije uloge fagocitoza i antigenska prezentacija T-stanicama. Najveći broj DC čine mijeloidne DC, ali se i plazmacitoidne DC mogu naći u sluznici dišnih putova. Limfociti se mogu naći pojedinačno ili u obliku klastera u lamini proprij dišnih putova i u submukozi. Većina intraepitelnih T-stanica su CD8+, dok se CD4+ T-stanice češće nalaze u lamini proprij. Različiti podsetovi CD4+ T-limfocita mogu imati ulogu u imunopatogenezi plućne infekcije i upale. T-pomoćničke stanice tipa 1 (Th1) luče interferon-gama (IFN-γ), koji je potentan proupalni citokin, ali i inhibira proliferaciju fibroblasta i tako smanjuje fibrozu. Suprotno tomu Th2-pomoćnički T-limfociti luče citokine kao što su interleukin 4 (IL-4), IL-5 i IL-13 koji potiču plućnu fibrozu. Također nalazimo Th17-stanice koje luče IL-17, potentan proupalni citokin koji privlači neutrofile na mjesto upale. B-stanice mogu pridonijeti lokalnom prepoznavanju antigena u limfnim čvorovima koji obavljaju drenažu pluća. Plazma-stanice su u lamini proprij i njihova je uloga uglavnom proizvodnja polimernih IgA, ali i IgM, čija je uloga neutralizacija udahnutih patogena. Plućni parenhim također sadržava B-stanice, ali ne i plazma-stanice. Novije su studije pokazale da B-stanice i antitijela mogu znatno utjecati na razvoj imunoreakcija i na unutarstanične patogene (5 – 11).

Ostale vrste stanica, kao što su mastociti, bazofili, eozinofili i neutrofil, nađene su u lamini proprij. U stacionarnim uvjetima alveolarni prostor sastoji se od 80 do 90% makrofaga, a ostatak su T i B-stanice (5, 8).

## Imunoreakcije u pneumonijama

Prvu liniju obrane od infekcija donjega respiratornog sustava, kako je već spomenuto, čine elementi nespecifične imunosti, među kojima najvažniju ulogu imaju epitelne stanice i makrofagi. Mehanizmi specifične imunosti imaju snažnu ulogu u obrani od različitih patogena (5).

### Elementi nespecifične imunosti u pneumonijama

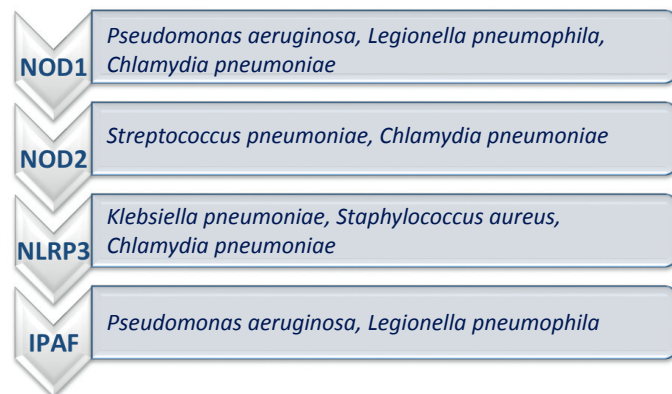
Za prepoznavanje patogena od strane respiratornog epitela u okviru nespecifične imunosti važne su dvije skupine receptora: TLR i receptori slični NOD-u (NLR). Na respiratornom epitelu na-

lazimo TLR1 – 6 i 9, a različiti patogeni koji izazivaju pneumonije mogu biti prepoznati preko više različitih TLR-a i NLR-a (slike 1. i 2.).

**SLIKA 1.** Prepoznavanje uzročnika pneumonije preko receptora sličnih Tollu



**SLIKA 2.** Prepoznavanje uzročnika pneumonije preko receptora sličnih NOD-u



Jedan od najvažnijih receptora u prepoznavanju i ekstracelularnih i intracelularnih respiratornih patogena jest TLR2. On prepoznaje bakterijske peptidoglikane i lipoproteine. TLR2 je izražen na većini stanica koje sudjeluju u imunoreakcijama tijekom pneumonija: makrofagima, dendritičkim stanicama, polimorfonuklearnim leukocitima, B-stanicama i T-stanicama, uključujući T-regulatorne stanice (CD4+CD25+). TLR2 prepoznaje razne ligande i u tom procesu koristi se različitim mehanizmima. Zajedno s TLR1 i/ili TLR6, TLR2 može prepoznati bakterijske triacilirane ili diacilirane lipopeptide. TLR2 prepoznaje pneumokoknu lipoteihoičnu kiselinu i peptidoglikan stanične stijenke. TLR4 je ključna komponenta u prirodnom imunosnom odgovoru na gram-negativne bakterije. Uloga ovog receptora je, međutim, također utvrđena kod pneumokokne infekcije, gdje je pokazano u *in vitro* uvjetima da proupalni učinak pneumolizina na makrofage ovisi o TLR4. Poznata je važna uloga CD14 kao koreceptora

u prepoznavanju lipopolisaharida (LPS) gram-negativnih bakterija, ali je nedavno pokazana i njegova uloga kod infekcije pneumokokom. TLR2 i TLR4 u suradnji s CD14 pojačavaju stanični odgovor na ligande, pokreću aktivaciju signalnih putova i aktivaciju NF- $\kappa$ B. Suradnja TLR2 i TLR6 potrebna je i u prepoznavanju pneumokoknog peptidoglikana, kao i kod infekcije sa *S. aureus*. NOD1 i NOD2 također su važni u prepoznavanju pneumokoka, ali i nekih drugih uzročnika pneumonija kako je već spomenuto (1, 5, 8, 10, 12 – 15).

Komponente komplementa imaju također važnu ulogu u nespecifičnoj imunosti, u prvom redu u procesu opsonizacije i posljedično fagocitoze, ali i kao medijatori upale i kemotaksije.

Poznato je da je komplement uključen u zaštitu od sistemske infekcije uzrokovane sa *S. pneumoniae*, ali je manje poznata njegova uloga u plućima tijekom pneumokokne upale pluća. Nedavna studija na miševima pokazala je da je prisutnost C3-komponente komplementa važna u plućima tijekom prvih sati infekcije. Dokazano je da se u prvom satu nakon infekcije smanjuje broj bakterija uz istodobni rast razine C3-komponente komplementa. Nedostatak C3 rezultirao je nemogućnošću kontrole infekcije uzrokovane sa *S. pneumoniae* u plućima i krvotoku, što je rezultiralo snažnim upalnim odgovorom i kraćim vremenom preživljavanja pokusnih miševa (16).

Nakon procesa prepoznavanja patogena slijedi proces fagocitoze mikroorganizama. U toj imunoreakciji sudjeluju i citokini: faktor tumorske nekroze (TNF- $\alpha$ ), IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 i IL-12. U imunopatogenezi pneumokokne pneumonije osobito važnu ulogu imaju TNF- $\alpha$  i IL-1 te je zapaženo znatno smanjenje migracija neutrofila kod deficijencije receptora za ova dva citokina (17). Glavni izvor TNF- $\alpha$  u pneumokoknoj pneumoniji jesu alveolarni makrofagi. Nakon što se razvije pneumonija, alveolarni makrofagi imaju ulogu u rezoluciji upale, a u procesu fagocitoze i uništavanja bakterija glavnu ulogu preuzimaju neutrofili. Važnu ulogu u rezoluciji upale u plućima ima apoptoza makrofaga i fagocitoza apoptotičnih makrofaga uz redukciju ekspresije TNF- $\alpha$  i smanjenje migracije neutrofila (18 – 19).

Uloga neutrofila iznimno je važna u procesu odstranjivanja *S. pneumoniae* i presudno je važna za nespecifičnu obranu u pneumokoknoj pneumoniji (20). Sposobnost neutrofila u borbi protiv pneumokoka, ali i drugih uzročnika pneumonija, ogleda se u nizu specifičnih aktivnosti kao što su kemotaksija i migracija kroz krvne žile tijekom koje dolazi do interakcije sa specifičnim ligandima na endotelu krvnih žila. Taj proces snažno reguliraju IL-1 i TNF- $\alpha$ . Nakon migracije do mjesta upale neutrofili su uključeni u proces fagocitoze i ubijanja uzročnika pneumonije. U sklopu nespecifične imunosti, kao odgovor na infekciju i posljedičnu upalu, skraćuje se i vrijeme njihova sazrijevanja u koštanoj srži i oslobađanje zrelih i nezrelih neutrofila u cirkulaciju (21). Treba istaknuti važnu ulogu kemokinâ kao što je IL-8, koji induciraju TNF- $\alpha$  i IL-1 preko NF- $\kappa$ B-sustava, a jedan je od naj-snažnijih kemoatraktanata za neutrofile. On snažno stimulira kemotaksiju neutrofila i utječe na njihovo usmjeravanje prema

mjestu upale i infekcije. Drugi citokini također imaju važnu ulogu u nespecifičnoj imunosti. Jedan od najistraženijih je IL-6 za koji je pokazano i proupalno i antiupalno djelovanje. IL-6 djeluje na odgađanje apoptoze neutrofila te pojačava njihov citotoksični učinak koji se ogleda između ostalog u produkciji radikala kisika. On snažno djeluje na indukciju proteinâ akutne faze kao što je C-reaktivni protein (CRP), a pokazana je njihova pozitivna korelacija u bolesnika s pneumonijom (22, 23).

### Elementi specifične imunosti u pneumonijama

Mehanizmi specifične imunosti visoko su sofisticirani i ovise o prepoznavanju specifičnih antigena na površini mikroorganizama te tvore snažnu obranu protiv različitih patogena, uključujući i one koji uzrokuju pneumonije. Međutim, za razliku od nespecifične imunosti, indukcija i razvoj imunoreakcija koje sudjeluju u specifičnoj imunosti mogu trajati danima i tjednima nakon ekspozicije patogenu, a važna komponenta tog procesa jest i stvaranje memorijskih stanica koje sudjeluju u snažnoj obrani pri ponovnim susretima s istim patogenima (1, 5, 8, 11).

Infekcija respiratornim patogenima, kao i drugim patogenima, dovest će do aktivacije B-stanica, njihove proliferacije u plazma-stanice i produkcije specifičnih antitijela na određene patogene i njihove antigene. Specifična antitijela na pneumokoke mogu aktivirati komplement, što dovodi do opsonizacije pneumokoka i na taj način dodatno pojačavaju i mehanizme nespecifične imunosti, kao što je fagocitoza posredovana komplementom od makrofaga i neutrofila. Njihova je dodatna uloga i u aglutinaciji pneumokoka i njihovu odstranjivanju. U aktivaciji B-stanica tijekom infekcije različitim patogenima, pa tako i brojnim patogenima koji uzrokuju pneumonije, sudjeluju pomoćničke T-stanice direktnim kontaktom s B-stanicama i oslobađanjem citokina. Problem koji se javlja u specifičnoj imunosti na jednog od najčešćih uzročnika pneumonija, *S. pneumoniae*, jest da njegov polisaharidni antigen ne može potaknuti pomoćničke T-stanice na interakciju s B-stanicama. Iako je aktivacija B-stanica neovisna o T-stanicama brža u smislu proliferacije i produkcije specifičnih antitijela, što je važno u akutnoj infekciji i upali, tijekom tog procesa ne dolazi do stvaranja memorijskih B-stanica, što onemogućava učinkovit odgovor kod potencijalne reinfekcije, ali i u procesu cijepljenja protiv pneumokoka (5, 8, 11, 24).

Više različitih supsetova T-stanica sudjeluje u mehanizmima specifične imunosti na respiratorne patogene. Općenito, CD4+ pomoćničke T-stanice (Th1, Th2, Th17) luče različite citokine i tako djeluju na okolne stanice na mjestu infekcije u upalnome miljeu, dok CD8+ T-stanice, tzv. citotoksične T-stanice uzrokuju apoptozu stanica zaraženih unutarstaničnim patogenima, u prvom redu virusima. Iako njihova uloga, barem koliko se danas zna, nije velika u infekcijama izvanstaničnim mikroorganizmima, izgleda da bi stanovitu obrambenu ulogu mogle imati kod npr. pneumokokne pneumonije, ali i pneumonija uzrokovanih drugim uzročnicima. Genska mutacija u ljudi na razini

TAP-proteina (engl. *transporter associated with antigen processing*) koji je važan u formiranju MHC I klase molekula u eukariotskim stanicama, manifestira se rekurirajućim respiratornim infekcijama (spastični bronhitis, pneumonije, bronhiektazije). Najčešći izolirani patogeni jesu: *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *Klebsiella* sp., *E. coli* i *P. aeruginosa* (8, 11, 24 – 25).

Th1-stanice luče interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), koji djeluje na makrofage tako što pojačava njihovu aktivaciju i uništavanje fagocitiranih mikroorganizama. Th2-stanice luče IL-4, IL-5, IL-13 i mogu djelovati na aktivaciju B-stanica. Th17-stanice indirektno sudjeluju u poticanju obrambenih mehanizama, uglavnom na ekstracelularne patogene te luče IL-17 i IL-22 koji su važni za mukoznu imunost. IL-17 npr. može djelovati na epitelne stanice bronha i potaknuti ih da produciraju IL-8 koji, kao što je već opisano, snažno kemotaktički djeluje na migraciju neutrofila. Th17-stanice mogu pozitivno djelovati i na integritet respiratornog epitela te pomažu pri oslobađanju sekretornih imunoglobulina. Važna uloga Th17-odgovora u obrani protiv pneumokoka pokazana je u bolesnika s hiper-IgE-sindromom koji imaju defekt u diferencijaciji Th17-stanica. U tih je bolesnika pokazana veća osjetljivost na infekcije pneumokokom u odnosu prema zdravoj populaciji. U pneumonijama važnu ulogu imaju i T-regulatorne stanice (Treg) koje sudjeluju u rezoluciji upale, u prvom redu lučeći IL-10 i reducirajući produkciju IFN- $\gamma$ . Izgleda da je jedna od njihovih važnih uloga i sprječavanje razvoja septikemije pri pneumonijama uzrokovanim sa *S. pneumoniae* (8, 11, 24).

### Potencijalni imunomodulatorni učinak antibiotika u pneumonijama

Posljednjih dvadesetak godina u istraživanjima antibiotika, osim o njihovu antimikrobnom učinku, počelo se govoriti o njihovoj potencijalnoj imunomodulatornoj i antiupalnoj ulozi, za što ima sve više znanstvenih potvrda. Bolje poznavanje ove još uvelike zanemarene vrijednosti antibiotika moglo bi nam pomoći u prikladnijem odabiru antibiotika i njihovih kombinacija, ne samo u direktnom uništavanju mikroorganizama nego i u imunomodulatornom učinku na akutnu i kroničnu upalu tijekom infekcija. Iako postoje istraživanja o imunomodulatornom djelovanju različitih antibiotika, tri su skupine označene kao najpotentnije u smislu modulacija imunoreakcija i upale: makrolidi, kinoloni i tetraciklini. S obzirom na to da su sve tri skupine antibiotika uključene u liječenje respiratornih infekcija, ne čudi da je znatan broj istraživanja usmjeren upravo na informacije o njihovu imunomodulatornom djelovanju u respiratornim infekcijama (5, 26 – 28).

### Potencijalna imunomodulatorna uloga makrolida u pneumonijama

Iako su pneumonije, kao što je već na početku istaknuto, najvažnije respiratorne infekcije, veći dio istraživanja imunomodulatorne uloge makrolida odnosi se na liječenje kroničnih upalnih plućnih bolesti kao što su: difuzni panbronhitis, cistična fi-



broza, astma, kronična opstruktivna plućna bolest i kronični rinosinusitis, a puno je nejasnija uloga makrolida kao imunomodulatora u akutnoj upali tijekom pneumonije (5, 26 – 28).

Glavni učinci makrolida u kroničnim respiratornim bolestima jesu: smanjenje produkcije sputuma, proupalnih imunoreaktivnih, velikim dijelom citokina i kemokina, među kojima možda najveću ulogu imaju IL-8 te redukcija biofilma. U difuznom panbronhialitisu makrolidi smanjuju produkciju obilnog sputuma, a u bolesnika s obliterirajućim bronhialitisom nakon transplantacije pluća azitromicin prevenira nakupljanje neutrofila u lumenu bronhiola i alveolama. Danas se u algoritmima liječenja cistične fibroze preporučuje liječenje azitromicinom u bolesnika s kolonizacijom s *P. aeruginosa* jer azitromicin djeluje na sintezu faktora virulencije i redukciju biofilma. Stanovit pozitivan učinak pokazan je pri primjeni makrolida u bolesnika s kroničnom opstruktivnom plućnom bolešću gdje utječu na smanjenje broja egzacerbacija bolesti i lučenje medijatora upale. U bolesnika s astmom u kojih su zabilježene infekcije atipičnim mikroorganizmima (npr. *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*) pokazano je imunomodulatorno djelovanje makrolida na neutrofile (5, 26 – 36).

Azitromicin, kao i ostali makrolidi, ima širok spektar djelovanja na većinu uzročnika pneumonija uključujući gram-pozitivne, gram-negativne i atipične mikroorganizme s dobrom kliničkom učinkovitošću. Manje je jasna imunomodulatorna uloga makrolida pri liječenju pneumonija. Poznato je da makrolidi mogu znatno utjecati na upalne procese modulacijom kemotaksije upalnih stanica, sintezom i produkcijom citokina i kemokina, ekspresijom adhezijskih molekula, produkcijom reaktivnih metabolita dušikova oksida (NO) i kisika. Znatno dio svojeg antiupalnog djelovanja makrolidi najvjerojatnije ostvaruju preko inhibicije aktivacije nuklearnog faktora kappa-B (NF-κB), koji spada u skupinu transkripcijskih faktora važnih u stimulaciji produkcije proupalnih citokina i aktivaciji gena koji reguliraju upalni odgovor u različitim organima, tkivima i stanicama. Tijekom pneumonije dolazi do oštećenja pneumocita i oslobađanja proupalnih citokina i kemokina koji uzrokuju znatnu migraciju i aktivaciju proupalnih stanica čija je glavna zadaća odstranjenje patogena. Makrolidi se mogu nakupljati u neutrofilima i makrofagima u znatno višim koncentracijama nego u izvanstaničnoj tekućini. U nekoliko studija koje su proučavale učinak makrolida na produkciju citokina u endotelnim, epitelnim ili imunosnim stanicama inficiranim patogenima koji uzrokuju pneumonije u općoj populaciji pokazano je da oni imaju supresivni učinak na produkciju proupalnih citokina. Međutim, postoje i studije gdje taj učinak nije jasno zabilježen. U nekim istraživanjima provedenim na miševima makrolidi su snižavali koncentraciju proupalnih citokina u bronhoalveolarnom lavatu miševa inficiranih bakterijama koje uzrokuju pneumonije u općoj populaciji, a njihovo imunomodulatorno djelovanje dokazano je i u situacijama kad su mikroorganizmi bili rezistentni na makrolide. To upućuje na zaključak da je njihov

imunomodulatorni učinak neovisan o njihovu antimikrobnom učinku. Kao što je već rečeno, tijekom pneumonije dolazi do nakupljanja upalnih stanica, u prvom redu neutrofila, a ovisno o vrsti antigena, i eozinofila i bazofila, što sve pojačava upalne procese u plućima. Istraživanja pokazuju da makrolidi tijekom pneumonije mogu poboljšati integritet endotelnih stanica, što će smanjiti transendotelnu migraciju proupalnih stanica. Također, reducirajući ekspresiju adhezijskih molekula na endotelnim i epitelnim stanicama, smanjuju adheziju i diapedezu polimorfonukleara te njihovo posljedično nakupljanje u plućima. Da bi se, međutim, shvatila kompletna imunomodulatorna uloga makrolida u pneumonijama, potrebno je više sustavnih *in vitro* i *in vivo* te kliničkih istraživanja (5, 26 – 29, 36 – 37).

### Potencijalna imunomodulatorna uloga kinolona u pneumonijama

Za kinolone je također pokazano da imaju imunomodulatorni učinak, no kao i za makrolide, to je još otvoreno polje istraživanja. Najviše ih je provedeno s moksifloksacinom iako su pojedina istraživanja napravljena i s ciprofloksacinom, levofloksacinom i dr. (37 – 38). Mehanizam antiupalnog djelovanja, koliko je do sada poznato, teče preko tri signalna puta koja imaju veliku ulogu u upalnim procesima: NF-κB, c-Jun N-terminalna kinaza (JNK) i protein kinaza ERK aktivirana mitogenom. Jedan od fokusa istraživanja imunomodulatornog učinka kinolona usmjeren je na sprječavanje pneumonije u neutropeniji. Mogući koristan učinak ciprofloksacina ili moksifloksacina u liječenju respiratornih infekcija u pacijenata s neutropenijom sklonih razvoju pneumonija još nije istražen (38 – 41). Ipak, *in vitro* i *in vivo* istraživanja daju neke ohrabrujuće rezultate. U *in vivo* pokusima proučavani su zaštitni učinci moksifloksacina u miševa kojima je ubrizgan ciklofosamid, nakon čega su miševi intratrahealno inkulirani s *C. albicans*. U kontrolnoj skupini miševa koja nije dobila antibiotik i miševa tretiranih ceftazidimom razvila se bronhopneumonija s dokazanim povišenim vrijednostima TNF-α i IL-8 u plućima. Nasuprot tomu u miševa tretiranih moksifloksacinom nije se razvila bronhopneumonija, a zabilježena je i znatna inhibicija sekrecije TNF-α i IL-8 u odnosu prema kontroli. U plućnom tkivu ispitivanih miševa imunohistokemijski su bojene epitelne stanice i makrofagi na prisutnost NFκB. U odnosu prema kontrolnoj skupini miševa i miševima tretiranim ceftazidimom, u miševa tretiranih moksifloksacinom nađeno je znatno smanjeno bojenje stanica na NFκB (43 – 44). Poznato je također da ciprofloksacin i moksifloksacin znatno povećavaju proizvodnju GM-CSF (engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) u plućima imunokompromitiranih životinja. GM-CSF ima ključnu ulogu u uspostavljanju i održavanju otpornosti u lokalnim infekcijama te znatno smanjuje oštećenje pluća i smrtnost u neutropeničnih štakora s infekcijom kandidom, dok se u *knockout* miševa za GM-CSF ubrzano razvijaju plućne infek-

cije. Osim toga, za neke fluorokinolone pokazano je da poboljšavaju hematopoezu povišenjem koncentracije CSF-a u plućima. Jedan od mogućih važnih imunomodulatornih učinaka kinolona jest i regulacija apoptoze neutrofila. Kontrola lokalnog upalnog procesa provodi se i preko konstitutivne apoptoze neutrofila, koja je jedan od homeostatskih mehanizama. Različiti kinoloni, međutim, mogu različito utjecati na ovu homeostazu. Dok npr. tosufloksacin odgađa smrt neutrofila, levofloksacin znatno promovira njihovu smrt bez učinka na konstitutivnu apoptozu neutrofila (5, 26, 28, 38). U nedavnome kliničkom istraživanju imunomodulatornog učinka levofloksacina na razine TNF- $\alpha$  i IL-10 u bolesnika s pneumonijom pokazano je da je levofloksacin statistički značajno snizio razine proupalnog citokina TNF- $\alpha$  u bolesnika, ali i zdravih ispitanika, dok je antiupalni citokin IL-10 bio znatno povišen u bolesnika te znatno snižen u zdravih ispitanika, što upućuje na važan imunomodulatorni i antibakterijski učinak levofloksacina u liječenju pneumonija (44).

#### **Potencijalna imunomodulatorna uloga tetraciklina u pneumonijama**

Za tetracikline je također pokazano da mogu biti potentni imunomodulatori (26, 28, 38).

Tetraciklini mogu djelovati na sniženje produkcije različitih proupalnih medijatora kao što su TNF- $\alpha$ , IL-1, NO, reaktivni derivati O<sub>2</sub>, ali i pojačavati produkciju antiupalnog citokina IL-10 u stanicama sisavaca. Također je pokazano da mogu djelovati na smanjenje produkcije proupalnih citokina (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, CCL3, CCL4) kod toksičnog šok-sindroma uzrokovanog stafilokoknim superantigenom, kao i reducirati T-staničnu proliferaciju (45). Jedno od novijih kliničkih istraživanja pokazalo je da doksiciklin može suprimirati produkciju IgE i IL-4, ali ne i IFN- $\gamma$  u perifernim mononuklearima astmatičara, koji su *in vitro* inficirani s *Chlamydia pneumoniae* te kultivirani s doksiciklinom (46).

Jedan od najvažnijih imunomodulatornih učinaka tetraciklina svakako je njihovo inhibitorno djelovanje na matriks metaloproteinaze (MMP) koje su odgovorne za promet i razgradnju izvanstaničnog matriksa, a djeluju i na proupalne citokine, kemokine i druge proteine regulirajući različite aspekte upale i imunoreakcija.

Metaloproteinaze MMP-2 i MMP-9, koje su među najčešće istraživanim metaloproteinazama, mogu u različitim imunoreakcijama imati proupalno, ali i antiupalno djelovanje. Doksiciklin je za sada jedini priznati sintetski inhibitor metaloproteinaza. Naše nedavno istraživanje pokazalo je da *Mycoplasma pneumoniae* inducira aktivnost MMP-9 u perifernim mononuklearima bolesnika s pneumonijom iz opće populacije (47).

Turski su autori nedavno pokazali da su serumske vrijednosti MMP-2, MMP-9 i inhibitora metalopeptidaze 1 (TIMP-1) u korelaciji s prognostičkim faktorima težine bolesti u bolesnika s pneumonijama iz opće populacije (48). Međutim, još nedostaju klinička ispitivanja koja bi pokazala imunomodulatornu ulogu tetraciklina u bolesnika s pneumonijom i njihov učinak na MMP, ali i druge proupalne medijatore u imunopatogenezi bolesti, kao i usporedba s imunomodulatornim učinkom makrolida ili kinolona (28, 47, 48).

## **ZAKLJUČAK**

Mehanizmi nespecifične i specifične imunosti u pneumonijama kompleksni su i bit će potrebna još brojna istraživanja da bi se bolje shvatili i rabili pri kreiranju novih lijekova i cjepiva te bolje primijenili u uporabi postojećih lijekova. Osim važnog antimikrobnog djelovanja antibiotika ne smijemo nikako zanemariti ni njihovo antiupalno i imunomodulatorno djelovanje koje nam može pomoći u racionalnijem pristupu liječenju pneumonija.

## LITERATURA

- Gagro A. Obilježja imunoreakcija u respiratornim infekcijama. *Medicus* 2005;14:27–31.
- Kuzman I. Infekcije dišnog sustava: najčešće bolesti čovjeka. *Medicus* 2005;14:19–26.
- Kuzman I, Puljiz I, Tudorić N. Liječenje pneumonija iz opće populacije. *Medicus* 2008;17:29–36.
- Ellison RT, Donowitz GR. Acute pneumonia. U: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and practice of infectious diseases. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, ur. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2015, str. 823–46.
- Markotić A. Protuupalno djelovanje azitromicina u respiratornim infekcijama. *Medicus* 2014;23:63–68.
- Didierlaurent A, Goulding J, Hussell T. The impact of successive infections on the lung microenvironment. *Immunology* 2007;122:457–65.
- Eddens T, Kolls JK. Host defenses against bacterial lower respiratory tract infection. *Curr Opin Immunol* 2012;24:424–30.
- Calbo E, Garau J. Of mice and men: innate immunity in pneumococcal pneumonia. *Int J Antimicrob Agents* 2010;35:107–13.
- Hippenstiel S, Opitz B, Schneck B, Suttrop N. Lung epithelium as a sentinel and effector system in pneumonia – molecular mechanisms of pathogen recognition and signal transduction. *Respir Res* 2006;7:97.
- Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006;124:783–801.
- Chiu C, Openshaw PJ. Antiviral B cell and T cell immunity in the lungs. *Nat Immunol* 2015;16:18–26.
- Chaput C, Sander LE, Suttrop N, Opitz B. NOD-Like Receptors in Lung Diseases. *Front Immunol* 2013;4:393.
- Brandt KJ, Fickentscher C, Kruithof EK, de Moerloose P. TLR2 ligands induce NF-κB activation from endosomal compartments of human monocytes. *PLoS One* 2013;8:e80743.
- Paterson GK, Orihuela CJ. Pneumococci: immunology of the innate host response. *Respirology* 2010;15:1057–63.
- Paterson GK, Mitchell TJ. Innate immunity and the pneumococcus. *Microbiology* 2006;152:285–93.
- Kerr AR, Paterson GK, Riboldi-Tunnicliffe A, Mitchell TJ. Innate immune defense against pneumococcal pneumonia requires pulmonary complement component C3. *Infect Immun* 2005;73:4245–52.
- Jones MR, Simms BT, Lupa MM, Kogan MS, Mizgerd JP. Lung NF-κB activation and neutrophil recruitment require IL-1 and TNF receptor signaling during pneumococcal pneumonia. *J Immunol* 2005;175:7530–5.
- Knapp S, Leemans JC, Florquin S i sur. Alveolar macrophages have a protective antiinflammatory role during murine pneumococcal pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:171–9.
- Marriott HM, Hellewell PG, Cross SS, Ince PG, Whyte MK, Dockrell DH. Decreased alveolar macrophage apoptosis is associated with increased pulmonary inflammation in a murine model of pneumococcal pneumonia. *J Immunol* 2006;177:6480–8.
- Kolling UK, Hansen F, Braun J, Rink L, Katus HA, Dalhoff K. Leucocyte response and anti-inflammatory cytokines in community acquired pneumonia. *Thorax* 2001;56:121–5.
- Lawrence E, Van Eeden S, English D, Hogg JC. Polymorphonuclear leukocyte (PMN) migration in streptococcal pneumonia: comparison of older PMN with those recently released from the marrow. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;14:217–24.
- Barton BE. IL-6: insights into novel biological activities. *Clin Immunol Immunopathol* 1997;85:16–20.
- Schaaf B, Rupp J, Müller-Steinhardt M i sur. The interleukin-6 – 174 promoter polymorphism is associated with extrapulmonary bacterial dissemination in *Streptococcus pneumoniae* infection. *Cytokine* 2005;31:324–8.
- Wilson R, Cohen JM, Jose RJ, de Vogel C, Baxendale H, Brown JS. Protection against *Streptococcus pneumoniae* lung infection after nasopharyngeal colonization requires both humoral and cellular immune responses. *Mucosal Immunol* 2015;8:627–39.
- Gadola SD, Moins-Teisserenc HT, Trowsdale J, Gross WL, Cerundolo V. TAP deficiency syndrome. *Clin Exp Immunol* 2000;121:173–8.
- Parnham MJ. Immunomodulatory approaches to the treatment of infections. *Infektološki Glasnik* 2011;31:15–27.
- Eraković Haber V. Makrolidi - više od antibiotika. *Infektološki Glasnik* 2011;31:29–39.
- Markotić A, Cvetko-Krajinović L. Protuupalno djelovanje antibiotika. *Infektološki Glasnik* 2011;31:41–48.
- Zarogoulidis P, Papanas N, Kioumis I, Chatzaki E, Maltezos E, Zarogoulidis K. Macrolides: from in vitro anti-inflammatory and immunomodulatory properties to clinical practice in respiratory diseases. *Eur J Clin Pharmacol* 2012;68:479–503.
- Amsden GW. Anti-inflammatory effects of macrolides – an underappreciated benefit in the treatment of community-acquired respiratory tract infections and chronic inflammatory pulmonary conditions? *J Antimicrob Chemother* 2005;55:10–21.
- Culić O, Eraković V, Čepelak I i sur. Azithromycin modulates neutrophil function and circulating inflammatory mediators in healthy human subjects. *Eur J Pharmacol* 2002;450:277–89.
- He ZY, Ou LM, Zhang JQ i sur. Effect of 6 months of erythromycin treatment on inflammatory cells in induced sputum and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 2010;80:445–52.
- Rollins DR, Beuther DA, Martin RJ. Update on infection and antibiotics in asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2010;10:67–73.
- Sharma S, Jaffe A, Dixon G. Immunomodulatory effects of macrolide antibiotics in respiratory disease: therapeutic implications for asthma and cystic fibrosis. *Paediatr Drugs* 2007;9:107–118.
- López-Boado YS, Rubin BK. Macrolides as immunomodulatory

- medications for the therapy of chronic lung diseases. *Curr Opin Pharmacol* 2008;8:286–91.
36. Kraft M, Cassell GH, Pak J, Martin RJ. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in asthma: effect of clarithromycin. *Chest* 2002;121:1782–8.
  37. Kanoh S, Rubin BK. Mechanisms of action and clinical application of macrolides as immunomodulatory medications. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23:590–615.
  38. Tauber SC, Nau R. Immunomodulatory properties of antibiotics. *Curr Mol Pharmacol* 2008;1:68–79.
  39. Weiss T, Shalit I, Blau H i sur. Anti-inflammatory effects of moxifloxacin on activated human monocytic cells: inhibition of NF-kappaB and mitogen-activated protein kinase activation and of synthesis of proinflammatory cytokines. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:1974–82.
  40. Werber S, Shalit I, Fabian I, Steuer G, Weiss T, Blau H. Moxifloxacin inhibits cytokine-induced MAP kinase and NF-kappaB activation as well as nitric oxide synthesis in a human respiratory epithelial cell line. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:293–300.
  41. Blau H, Klein K, Shalit I, Halperin D, Fabian I. Moxifloxacin but not ciprofloxacin or azithromycin selectively inhibits IL-8, IL-6, ERK1/2, JNK, and NF-kappaB activation in a cystic fibrosis epithelial cell line. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292:343–52.
  42. Shalit I, Halperin D, Haite D i sur. Anti-inflammatory effects of moxifloxacin on IL-8, IL-1-beta and TNF-alpha secretion and NFkappaB and MAP-kinase activation in human monocytes stimulated with *Aspergillus fumigatus*. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:230–5.
  43. Shalit I, Horev-Azaria L, Fabian I i sur. Immunomodulatory and protective effects of moxifloxacin against *Candida albicans*-induced bronchopneumonia in mice injected with cyclophosphamide. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:2442–9.
  44. Badari MS, Elgendy SG, Mohamed AS, Hassan AT. Immunomodulatory Effects of Levofloxacin on Patients with Pneumonia in Assiut University Hospitals. *Egypt J Immunol* 2015;22:79–85.
  45. Krakauer T, Buckley M. Doxycycline is anti-inflammatory and inhibits staphylococcal exotoxin-induced cytokines and chemokines. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:3630–3.
  46. Dzhindzhikhashvili MS, Joks R, Smith-Norowitz T i sur. Doxycycline suppresses *Chlamydia pneumoniae*-mediated increases in ongoing immunoglobulin E and interleukin-4 responses by peripheral blood mononuclear cells of patients with allergic asthma. *J Antimicrob Chemother* 2013;68:2363–8.
  47. Puljiz I, Markotić A, Cvetko Krajinović L, Gužvinac M, Polašek O, Kuzman I. *Mycoplasma pneumoniae* in adult community-acquired pneumonia increases matrix metalloproteinase-9 serum level and induces its gene expression in peripheral blood mononuclear cells. *Med Sci Monit* 2012;18:CR500–505.
  48. Bircan HA, Çakir M, Yilmazer Kapulu I, Sütcü R, Kaya S, Öztürk O. Elevated serum matrix metalloproteinase-2 and -9 and their correlations with severity of disease in patients with community-acquired pneumonia. *Turk J Med Sci* 2015;45:593–9.



#### ADRESA ZA DOPISIVANJE:

Prof. dr. sc. Alemka Markotić, dr. med.  
 Odjel za znanstvena istraživanja  
 Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“  
 Mirogojska 8  
 10000 Zagreb  
 e-mail: alemka.markotic@bfm.hr  
 alemka.markotic@gmail.com

#### PRIMLJENO/RECEIVED:

18. 2. 2016. / February 18, 2016

#### PRIHVAĆENO/ACCEPTED:

2. 3. 2016. / March 2, 2016

